Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 1, Apr. May. 2017, p. 79- 91

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۳، شماره ۱، فروردین-اردیبهشت ۱۳۹۶ ص.۹۱-۷۹

ارزیابی ویژگی‌های ساختاری و عملکردی پروتئین سه ژنوتیپ مختلف لوبیا (*Phaseolus vulgaris*)

نازنین فاطمه رحمتی[1]، آرش کوچکی[2*]، مهدی وریدی[3]، رسول کدخدایی[4]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۵/۲۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۰/۲۸

چکیده

امروزه تقاضا برای استفاده از پروتئین های گیاهی در حال افزیش است زیرا این پروتئین ها منابعی قابل دسترس و ارزان هستند. لذا در این تحقیق پروتئین سه ژنوتیپ مختلف لوبیا (*Phaseolu svulgaris*) شامل پاچ باقلا (Speckled Sugar)، قرمز (Red Mexican) و سفید (Great Northern) با استفاده از روش قلیایی- اسیدی استخراج و ویژگی‌های ساختاری (الکتروفورز، حلالیت، آب‌گریزی) و عملکردی آنها در سیستم‌های مختلف غذایی (امولسیون، ژل و کف) در دامنه پی اچ ۳ تا ۷ مورد بررسی قرار گرفت. الکتروفورز پروتئین‌ها نشان داد که فازئولین بخش عمده تشکیل‌دهنده هر سه نوع پروتئین مورد بررسی است. ارزیابی حلالیت پروتئین‌ها نیز مشخص نمود که هر سه پروتئین دارای حلالیت بسیار مناسب هستند بطوری‌که حلالیت پروتئین لوبیا پاچ باقلا در پی‌اچ ۷، ۸۳ درصد بود. همچنین بررسی آب‌گریزی سطحی نشان داد که پروتئین لوبیای پاچ باقلا کمترین و پروتئین لوبیا سفید بیشترین آب‌گریزی را دارا بودند ($P<0/05$). به‌علاوه هر سه پروتئین کمترین آب‌گریزی سطحی را در پی‌اچ ۷ نشان دادند. ارزیابی ویژگی‌های عملکردی پروتئین‌ها نیز بیان‌کننده این مطلب بود که توانایی امولسیون‌کنندگی بیشتر تحت تاثیر حلالیت پروتئین و در مقابل توانایی تشکیل ژل و کف‌کنندگی تحت تاثیر آب‌گریزی پروتئین‌ها بوده است بطوری‌که بیشترین ظرفیت امولسیون‌کنندگی برای هر سه پروتئین در پی‌اچ ۷ (۷۰-۷۷ درصد) اما بیشترین توانایی تشکیل ژل (۶ درصد پروتئین) و کف (۱۳۰-۱۵۰ درصد) در پی‌اچ ۳ مشاهده گردید. نتایج این پژوهش نشان داد با توجه به تاثیر مستقیم ویژگی‌های ساختاری پروتئین بر عملکرد آن، این ویژگی‌ها باید قبل از انتخاب پروتئین برای استفاده در سیستم‌های مختلف غذایی مورد توجه قرار گیرند.

واژه های کلیدی: پروتئین لوبیا، ساختار، عملکرد، امولسیون، ژل، کف

مقدمه

پروتئین‌ها مولکول‌هایی با ویژگی‌های عملکردی منحصر به‌فرد هستند که در سیستم‌های مختلف غذایی (امولسیون، ژل، کف و...) مورد استفاده قرار می‌گیرند. امروزه تقاضا برای استفاده از پروتئین‌های گیاهی در حال افزیش است زیرا این پروتئین‌ها منابعی قابل دسترس و ارزان هستند (Karaca *et al*., 2011;Aluko *et al*., 2009).

پیش از این ویژگی‌های ساختاری و عملکردی برخی از پروتئین‌های گیاهی مورد بررسی قرار گرفته است. به‌عنوان مثال امکان استفاده از ایزوله پروتئین خلر برای تولید و پایدارسازی امولسیون روغن در آب وچگونگی عملکرد پروتئین‌های سویا و گلوتن گندم برای پایدارسازی امولسیون‌های با روغن بالا (۷۵ درصد روغن) به ترتیب توسط قربانیان (۱۳۹۲) و Bengoechea و همکاران(۲۰۱۰) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج هر دو تحقیق نشان‌دهنده افزایش ناپایداری امولسیون در پی‌اچ ایزوالکتریک به دلیل خنثی بودن بار الکتریکی در این نقطه و بهم پیوستگی و در نتیجه بزرگتر شدن ذرات و افزایش ناپایداری امولسیون بود. Jarpa-Parraa و همکاران (۲۰۱۵) نیز با بررسی برخی ویژگی‌های ساختاری پروتئین عدس، کمترین میزان حلالیت پروتئین عدس را در محدوده پی‌اچ ۴ تا ۵ مشاهده کردند. آنها همچنین کمترین میزان آب‌گریزی این پروتئین را در پی‌اچ ۵ و بیشترین میزان این کمیت را در پی‌اچ ۳ گزارش کردند. ویژگی‌های عملکردی آرد برخی حبوبات شامل آرد نخود، عدس، لوبیا قرمز و لوبیا چیتی نیز توسط اسدپور و همکاران (۱۳۹۰) مورد بررسی

۱، ۲ و ۳- دانشجوی دکتری، دانشیار و استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.
۴- دانشیار گروه نانو فناوری مواد غذایی، پژوهشکده علوم و صنایع غذایی مشهد.
(* - نویسنده مسئول: Email: koocheki@um.ac.ir)
DOI: 10.22067/ifstrj.v1396i1.58213

قرار گرفت. نتایج نشان داد کـه آرد لوبیـا چیتـی و قرمـز از فعالیـت امولسیون‌کنندگی بیشتری برخوردار بوده و آرد نخود و عدس از لحاظ این ویژگی بعد از این دو آرد قرار داشتند.بیشترین میزان کف‌کنندگی نیز برای آرد لوبیا قرمز و چیتی (۶۸ و ۶۴ درصد) و کمتـرین میـزان کـف‌کننـدگی (۳۴ درصـد) نیـز بـرای آرد نخـود مشـاهده گردیـد. خصوصیات عملکردی آرد و ایزوله پروتئین گونه‌ای از بـادام‌زمینـی و کانولانیز توسط Eltayeb و همکاران (۲۰۱۱) و Chang و همکـاران (۲۰۱۵) مورد بررسی قرار گرفت.

پروتئین حبوبات گروه مهمی از پروتئین‌های گیاهی هستند. گرچه به دلیل عدم وجود اطلاعات کافی در مورد ویژگی‌های عملکردی‌شان (بجز پروتئین سویا) تـاکنون کـاربرد محـدودی در صـنعت و تولیـد محصـولات غـذایی داشـته انـد (Papalamprou *et al*., 2010; Karaca *et al*., 2011).

لوبیا (*Phaseolus vulgaris*) در بین حبوبـات در جهـان دارای بیشترین سطح زیر کشت است ودر کشورهای مختلـف دنیـا حـداقل کشت یکی از انواع لوبیا رایج است (همتی، ۱۳۹۱؛ باقری و همکاران، ۱۳۸۰). لوبیا علاوه بر داشتن ۱۵ تا ۲۵ درصد پروتئین، منبع مهمی از فیبر، ویتامین‌ها و مواد معدنی نیز می‌باشد (Sathe, 2002).

به دلیل وجود منابع تجاری محدود از پروتئین حبوبات در صنایع غذایی و با توجه به تولید قابل توجه لوبیا در کشور (بیش از ۲۲۶ هزار تن در سال زراعی ۹۲-۹۳) و جهان هدف از انجام این تحقیق معرفی و ارائه منبع جدیدی از پروتئین حبوبات خواهد بـود. بـه دلیـل اینکـه توصیف عملکرد پروتئین در سیستم‌های مختلف غـذایی، بـه داشـتن درک مناسبی از ویژگی‌های ساختاری پروتئین بسـتگی دارد، در ایـن تحقیق تلاش بر آن خواهد بـود کـه بـا بررسـی برخـی خصوصـیات فیزیکوشیمیایی (الکتروفورز، حلالیت و آب‌گریزی) پروتئین تیپ‌هـای مختلف لوبیا، قابلیـت کـاربرد ایـن پـروتئین‌هـا در تشـکیل و تولیـد سیستم‌های مختلف غذایی (امولسیون، ژل و کف) مورد ارزیابی قـرار گیرد.

مواد و روش‌ها

مواد

سه تیپ مختلف لوبیا (*Phaseoulus vulgaris*) شامل لوبیا پاچ باقلا با نام تجاری Speckled Sugar، لوبیا قرمزبا نام تجاری Red Mexican و لوبیا سـفیدبا نـام تجـاری Great Northern از مرکـز تحقیقات کشاورزی اراک خریداری گردید. مواد شیمیایی مختلـف بـا درجه آزمایشگاهی (سیگما، بیوراد، مرک و مجللی) تهیـه و از روغـن مایع آفتابگردان برای تهیه امولسیون استفاده گردید.

استخراج پروتئین

برای استخراج پـروتئین از روش قلیـایی- اسـیدی اسـتفاده شـد (Rahmati *et al*., 2016). استخراج قلیایی با نسبت ۱:۱۰ آرد (لوبیا پاچ بـاقلا ۲۳/۳۴ درصـد پـروتئین، ۳/۲ درصـد چربـی، ۴/۴ درصـد خاکستر، ۶۹/۲۸ درصد کربوهیدرات، لوبیا قرمز ۲۴/۱۷ درصد پروتئین، ۳/۰۱ درصد چربی، ۳/۶۹ درصد خاکستر، ۶۷/۹۵ درصد کربوهیدرات، لوبیا سفید ۲۳/۵۹ درصد پروتئین، ۲/۴۹ درصد چربـی، ۴/۱۴ درصـد خاکستر، ۶۹/۷۸ درصد کربوهیدرات) به آب بـه مـدت ۴۵ دقیقـه در پی‌اچ ۹ انجام و سپس برای جداسـازی بـاقی‌مانـده آرد از سـانتریفوژ (Sigma 3-30 KHS, Sigma Co.,Germany) (۱۵۰۰۰g ، ۱۵ دقیقه) استفاده گردید. رسوب‌دهی پروتئین درپی‌اچ ۴/۵ صورت گرفت و بعد از آن این رسوب توسط سانتریفوژ (۷۰۰۰g ، ۱۵ دقیقه) جدا شد. در گام بعد، رسوب پروتئین با آب در طـی دو مرحلـه شسـت‌وشـو و سپس خنثی‌سازی با استفاده از سود یک نرمـال در پـی‌اچ ۷ صـورت گرفت. پروتئین بدست آمده با استفاده از خشک‌کن انجمادی خشک، سپس تحت خلا بسته‌بندی و در دمای ۴ درجه سلسـیوس نگهـداری شد.

الکتروفورز

برای انجام بعد اول الکتروفورز از نوار پی‌اچ در محدوده ۳ تـا ۱۰ استفاده گردید. در بعد دوم ابتدا متعـادل‌سـازی‌نوارهـای ژل انجـام و سپس از ژل متراکم‌کننده ۵ و از ژل جـدا کننـده ۱۱/۵ درصـد بـرای جداسازی اجزای پروتئین استفاده شد. کوماسی برلیانت بلو نیـز بـرای رنگ‌آمیزی ژل‌ها استفاده گردید.

حلالیت پروتئین

حلالیت پروتئین سه تیپ مختلف لوبیا در پی‌اچهای مختلف (۹-۳) با استفاده از روش بیورت اندازه‌گیـری شـد (Owusu-Apenten, 2002). برای تنظیم پی‌اچ از سود سـوزآور و اسـید هیدروکلریـدریک (یک و یک‌دهم نرمـال) و بـرای جداسـازی پـروتئین غیرمحلـول از سانتریفوژ با سرعت ۵۰۰۰g به مدت۲۰ دقیقه استفاده گردید. جـذب نمونه‌ها نیز در طول موج ۵۴۰ نانومتر (WPA Lightwave s2000, UV/Vis, Scinteck Co., UK) خوانده شد. پروتئین سرم آلبـومین گاو به‌عنوان پروتئین استاندارد در نظر گرفته شد.

آب‌گریزی سطحی

آب‌گریزی سطحی پروتئین با اسـتفاده از پـروب ۸- آنیلینـو-۱- نفتالن سولفونیک اسید مورد ارزیـابی قـرار گرفـت (ANS). بـه ایـن منظور، ۴ میلی‌لیتر از محلول پروتئین تهیه شده با بافر فسفات سدیم ۰/۰۱ مولار در پی‌اچهای مختلف (۷-۳) با ۲۰ مایکرولیتر از محلـول

پروب (۸ میلی‌مولار) مخلوط و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در تاریکی نگهداری شد. بعد از آن، آب‌گریزی سطحی پروتئین‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروسکوپ فلوئورسنس (Jasco FP-6500, Jasco analytical instruments, USA) تعیین گردید. برای برانگیختگی از طول موج ۳۹۰ نانومتر استفاده و نشر نمونه‌ها در طول موج ۴۷۰ نانومتر بررسی شد. محلول پروب و محلول‌های پروتئین در پی‌اچ‌های مختلف (بدون پروب) به‌عنوان نمونه‌های شاهد مورد استفاده قرار گرفتند (Karaca, *et al*., 2011).

ظرفیت امولسیون‌کنندگی- پایداری حرارتی امولسیون

ظرفیت امولسیون‌کنندگی و پایداری حرارتی امولسیون مشابه روش فیضی و همکاران (۱۳۹۲) ارزیابی شد. روغن آفتابگردان به آرامی به محلول پروتئین (۱ درصد پروتئین، پی‌اچ ۷-۳) اضافه و سپس نمونه‌های امولسیون (۲۵ درصد روغن) به مدت ۲/۵ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه (UltraTurrax, IKA Instruments, Germany) همـوژن گردیدند. به‌منظور اندازه گیری ظرفیت امولسیون‌کنندگی، از سانتریفوژ به مدت ۲ دقیقه در ۱۰۰۰g استفاده شد. در نهایت ظرفیت امولسیون‌کنندگی با استفاده از فرمول زیر بدست آمد:

$$EC, EHS = (e_h / t_h) \times ۱۰۰ \quad ()$$

که در این معادله EC ظرفیت امولسیون‌کنندگی، e_h ارتفاع امولسیون و t_h ارتفاع کل نمونه منتقل شده به لوله است. برای محاسبه پایداری حرارتی (*EHS*)، نمونه‌های امولسیون قبل از سانتریفوژ به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند.

توانایی تشکیل ژل

نمونه‌های ژل پروتئینی با استفاده از روش بیان شده توسط Cheng و همکاران (۲۰۰۹) تهیه شد. به این منظور سوسپانسیون‌های پروتئینی (۴، ۶، ۸، ۱۰ و ۱۲ درصد) در دامنه پی‌اچ ۳-۷ با استفاده از آب دیونیزه تهیه شدند. سپس ۵ گرم از هر نمونه به لوله منتقل و حرارت‌دهی نمونه‌ها به مدت یک ساعت در آب در حال جوش صورت گرفت. بعد از آن نمونه‌ها به سرعت توسط آب خنک و سپس به مدت ۲ ساعت در دمای ۴ درجه قرار گرفتند.حداقل غلظتی از پروتئین که ژل تشکیل‌شده با آن با معکوس کردن لوله حاوی ژل جریان پیدا نکند به‌عنوان توانایی تشکیل ژل در نظر گرفته شد.

کف‌کنندگی و پایداری کف

برای تهیه کف پروتئینی طبق روشMoure و همکاران (۲۰۰۲) عمل گردید. مقدار معینی از هر پروتئین (۰/۵ گرم) با ۴۰ گرم آب دیونیزه مخلوط، پی‌اچ نمونه (۳ تا ۷) تنظیم و سپس از دور ۲۰۰۰۰ بر دقیقه هموژنایزر توراکس به مدت دو دقیقه برای تولید کف استفاده گردید. توانایی تولید کف پروتئین به‌عنوان تفاوت حجم قبل و بعد از تولید کف محاسبه گردید. پایداری کف نیز در طی ۹۰ دقیقه بعد از تولید کف ارزیابی شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

طرح آزمایشی فاکتوریل با پایه کاملا تصادفی برای انجام آزمون‌ها مورد استفاده قرار گرفت.برای حلالیت از ۱ درصد پروتئین در پنج سطح پی‌اچ (۳، ۴/۵، ۵، ۷ و ۹)،برای آب‌گریزی از شیب خط نمودار در سه سطح پی‌اچ (۳، ۵ و ۷)، برای توانایی امولسیون کنندگی و پایداری حرارتی امولسیون از ۱ درصد پروتئین در سه سطح پی‌اچ (۳، ۵، ۷) و برای کف‌کنندگی از ۱/۲ درصد پروتئین در سه سطح پی‌اچ (۳، ۵ و ۷) استفاده گردید. تمامی آزمون‌ها با ۲ تا ۴ تکرار انجام شد. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد و با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

الکتروفورز

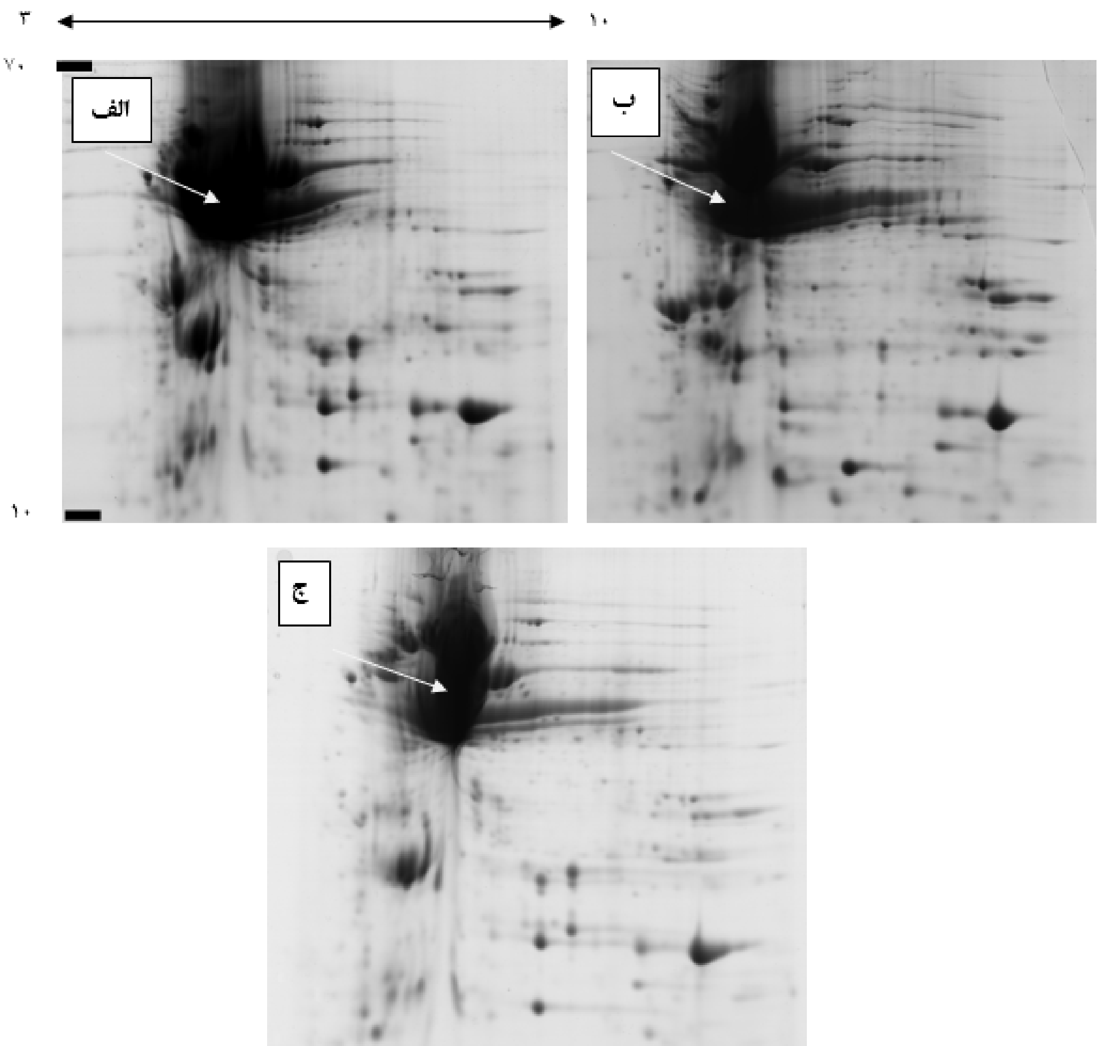
شکل ۱ نشان‌دهنده نقشه پروتئوم پروتئین‌ها در دو بعد (پی‌اچ ایزوالکتریک و وزن مولکولی) است.با توجه به شکل پی‌اچ ایزوالکتریک اغلب اجزای تشکیل‌دهنده هر سه پروتئین در محدوده اسیدی (کمتر از ۷) قرار داشت.پی‌اچ ایزوالکتریک پروتئین لوبیا نیز مانند پروتئین دیگر حبوبات به دلیل داشتن مقدار زیادی اسیدهای آمینه‌اسیدی در محدوده پی‌اچ اسیدی قرار دارد (Sathe, 2002).

نقشه پروتئوم بیان‌کننده این مطلب است که بیشترین تجمع اسپاتها در محدوده پی‌اچ بین ۴/۵ تا ۶/۵ است. Fuenteو همکاران (۲۰۱۲) و Natarajan و همکاران (۲۰۱۳) نیز بعد از انجام الکتروفورز پروتئین لوبیا در دو بعد دریافتند که بیشترین اسپات‌های پروتئینی در محدوده پی‌اچ بین ۴/۵ تا ۷ قابل مشاهده اند. Dziuba و همکاران (۲۰۰۹) و Scippa و همکاران (۲۰۱۰) نیز نتیجه مشابهی را برای پروتئین‌های نخود و عدس گزارش کردند (Dziuba *et al*., 2014; Scippa *et al*., 2010).

پی‌اچ ایزوالکتریک پروتئین تحت تاثیر ساختار سه‌بعدی آن قرار دارد و در شرایطی که ساختار سه‌بعدی پروتئین از بین برود و پروتئین دناتوره گردد پی‌اچ ایزوالکتریک پروتئین تغییر خواهد کرد.در پروتئین با ساختار طبیعی برخی از گروه‌های آمین و کربوکسیل زنجیره جانبی اسیدهای آمینه توسط پیوندهای هیدروژنی به یکدیگر اتصال یافته‌اند. این پیوندهای هیدروژنی در طی دناتوره شدن پروتئین باز شده و به این ترتیب پی‌اچ ایزوالکتریک پروتئین افزایش یافته و به عدد ۷ نزدیک می‌شود (Pauling, 2001). از آنجایی که الکتروفورز

فرآیندی است که در طی آن ساختار سه‌بعدی پروتئین به دلیل استفاده از مواد دناتوره‌کننده از بین‌رفته تا پروتئین مستقل از ساختار و تنها بر اساس وزن مولکولی و پی‌اچ حرکت کند، پی‌اچ ایزوالکتریک حاصل از الکتروفورز دو بعدی با پی‌اچ ایزوالکتریک پروتئین طبیعی متفاوت خواهد بود. Siddiq و Uebersax (۲۰۱۳) بیان کردند که پی‌اچ ایزوالکتریک پروتئین لوبیادر حالت طبیعی حدود ۴/۵ است. این موضوع به خوبی در نمودار مربوط به حلالیت پروتئین‌ها (شکل ۲) قابل مشاهده است. در این منحنی کمترین حلالیت هر سه پروتئین، در پی‌اچ ۴/۵ قابل مشاهده است. اما به دلایلی که بیان گردید پی‌اچ ایزوالکتریک اغلب قسمت‌های پروتئین که توسط الکتروفورز دو بعدی تفکیک گردیده‌اند به منطقه خنثی نزدیک شده و در محدوده پی‌اچ ۴/۵ تا ۶/۵ قرار می‌گیرد. محل قرارگیری فازئولین در الگوی پروتئوم دو بعدی نشان داده شده است. فازئولین مهم‌ترین جزء تشکیل‌دهنده پروتئین لوبیا است. این نتیجه قبلا توسط دیگر محققین نیز تایید شده است.این پژوهش‌ها نیز نشان‌دهنده محدوده پی‌اچ ایزوالکتریک ۵-۶ برای فازئولین است (Fuente *et al*., 2012; Natarajan *et al*., 2013; Montoya *et al*., 2016).

نتایج همچنین نشان‌دهنده وزن مولکولی حدود۴۰-۵۵ کیلو دالتون برای فازئولین لوبیا است. Montoya و همکاران (۲۰۰۹) نیز در تطابق با این مشاهده بیان کردند که وزن مولکولی فازئولین لوبیا در محدوده ۴۰ تا ۵۴ کیلو دالتون قرار دارد.



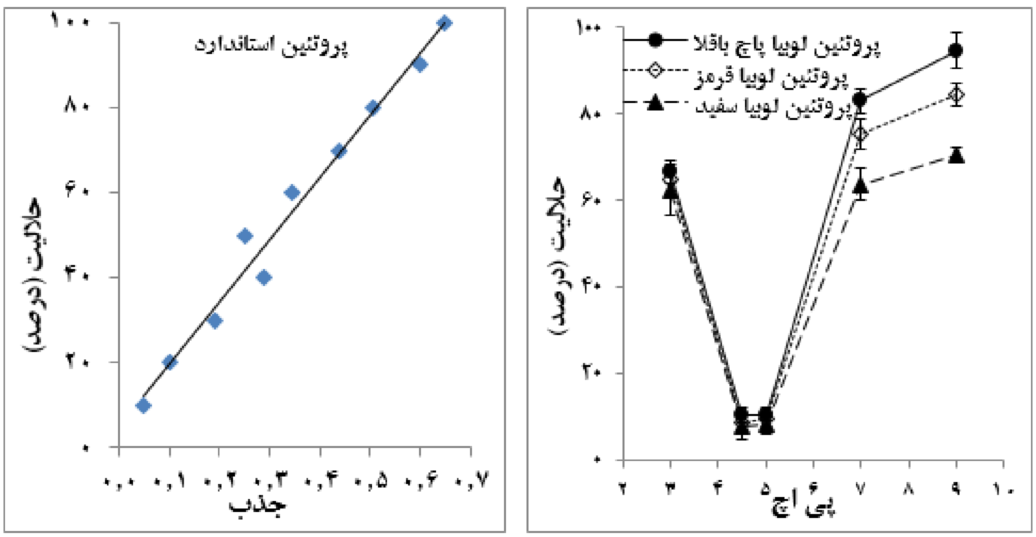
شکل ۱- الگوی الکتروفورز دو بعدی: پروتئین لوبیا پاچ باقلا (الف)، پروتئین لوبیا قرمز (ب)، پروتئین لوبیا سفید (ج)

حلالیت پروتئین

شکل ۲ نشان‌دهنده حلالیت سه پروتئین لوبیا در محدوده پی‌اچ ۳ تا ۹ است.

همانطور که شکل نشان می‌دهد کمترین میزان حلالیت برای هر سه پروتئین در پی‌اچ ۴/۵ (پی‌اچ ایزوالکتریک) مشاهده گردید و تغییر پی‌اچ به مقادیر بالاتر یا کمتر حلالیت پروتئین‌ها را افزایش داد.

برهمکنش بین گروه‌های آبدوست پروتئین و مولکول‌های آب باعث حل شدن پروتئین می‌شود (Zayas, 1997). از دیگر عوامل اثرگذار بر حلالیت پروتئین، تعادل بین برهمکنش‌های پروتئین– آب و پروتئین –پروتئین است. برهمکنش های پروتئین –آب باعث افزایش حلالیت و بر همکنش‌های پروتئین –پروتئین باعث کاهش حلالیت و در نهایت رسوب پروتئین خواهند شد (Damodaran, 1994). Zayas (۱۹۹۷) بیان کرد که برهمکنش‌های بیشتری در پی‌اچ‌های بالاتر یا پایین‌تر از نقطه ایزوالکتریک بین پروتئین و آب رخ می‌دهد زیرا در این شرایط مولکول پروتئین دارای بار مثبت یا بار منفی است. در پی‌اچ‌های اسیدی بار پروتئین مثبت، زیرا گروه آمینو پروتونه (NH_3^+) و در پی‌اچ‌های قلیایی بار پروتئین منفی است زیرا گروه کربوکسیل دپروتونه (COO^-) می‌شود. بر خلاف این، در پی‌اچ ایزوالکتریک هر دو گروه آمینو و کربوکسیل دارای بار الکتریکی‌اند، بنابراین برآیند بار الکتریکی اسیدآمینه صفر خواهد بود (Fennema, 1996).



شکل ۲- نمودار حلالیت پروتئین استاندارد و سه پروتئین لوبیا پاچ باقلا، لوبیا قرمز و لوبیا سفید

بیشترین حلالیت هر سه پروتئین در پی‌اچ‌های قلیایی مشاهده شد. پیش از این منحنی یو شکل و حلالیت بیشتر پروتئین حبوبات در پی‌اچ‌های قلیایی توسط دیگر محققین گزارش شده بود (Meng & Ma, 2002; Boye *et al*., 2010; Sathe, 2002).بطور مشابه، پروتئین لوبیا نیز دارای حلالیت بیشتر در محدوده پی‌اچ غیر اسیدی است. Sathe (۲۰۰۲) دلیل این مساله را مقدار زیاد اسیدهای آمینه اسیدی (اسید گلوتامیک و اسید آسپارتیک) در ساختار پروتئین لوبیا دانست و بیان کرد که اسیدهای آمینه اسیدی زیاد باعث قرار گرفتن پی‌اچ ایزوالکتریک پروتئین لوبیا در محدوده اسیدی می‌گردد (Sathe, 2002).

بطور کلی هر سه پروتئین لوبیا حلالیت بسیار خوبی در مقایسه با دیگر پروتئین‌های گیاهی داشتند. برای مثال در پی‌اچ ۷ حلالیت بین ۳۰ تا ۷۰ درصد برای پروتئین نخود، عدس قرمز، نارگیل، کانولا و سویا توسط دیگر محققین گزارش شده است (Boye *et al*., 2010; Thaiphanit & Anprung, 2015; Chang *et al*., 2015)، در حالی‌که در این پی‌اچ حلالیت سه پروتئین لوبیا پاچ باقلا، قرمز و سفید به ترتیب برابر با ۸۳، ۷۵ و ۶۳ درصد بود.

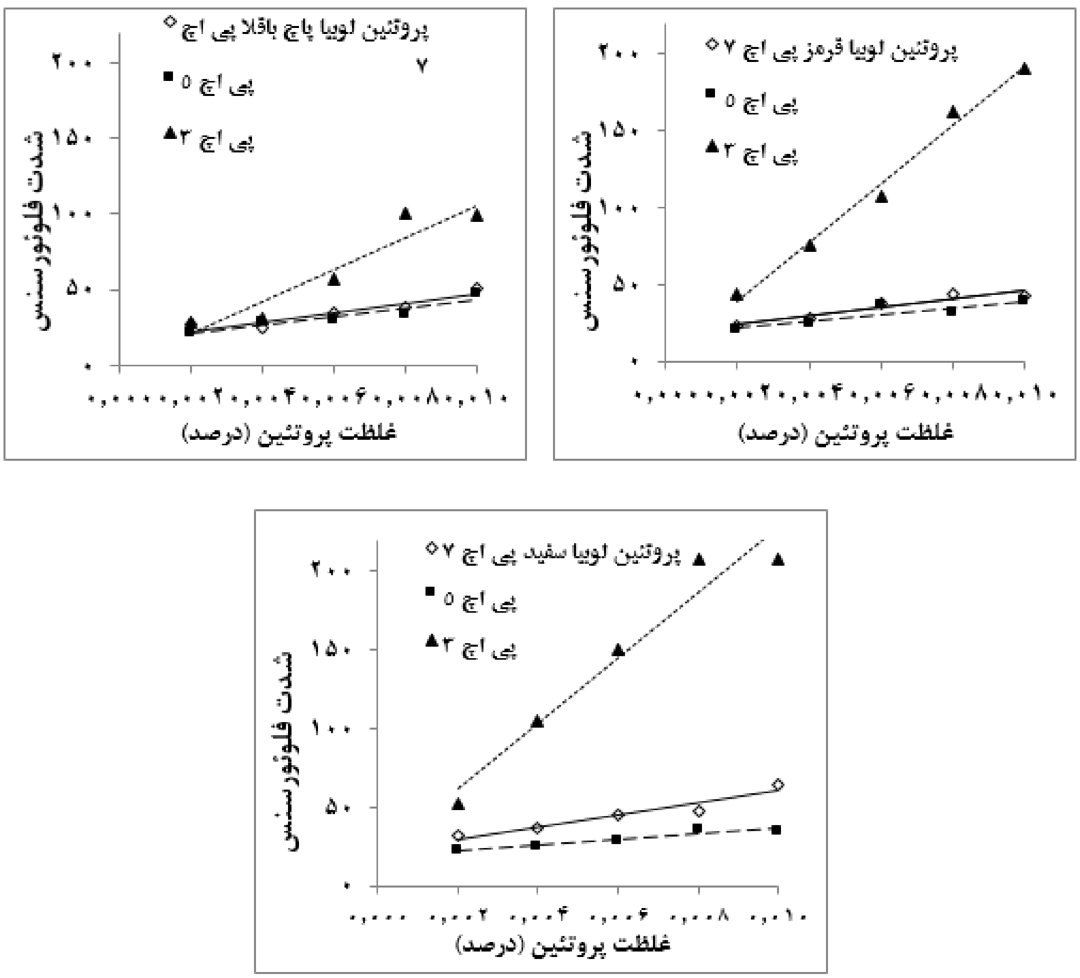
در تمامی محدوده پی‌اچ مطالعه شده پروتئین لوبیا پاچ باقلا بیشترین حلالیت را داشت (P<۰/۰۵) (جدول ۱) و بعد از آن به ترتیب پروتئین لوبیا قرمز و پروتئین لوبیا سفید قرار داشتند. این مساله را می‌توان به بار سطحی بیشتر و آب‌گریزی سطحی کمتر پروتئین لوبیا پاچ باقلا نسبت به دو پروتئین دیگر نسبت داد.

جدول ۱- اندیس های آماری P و F برای کمیت های مختلف

ضریب تبیین	اندیس P	اندیس F	منبع
۹۹/۵	۰/۰۰۰***	۴۰۹/۶۵	حلالیت
۹۵/۱	۰/۰۰۰***	۲۱/۷۸	آب گریزی
۹۱/۰	۰/۰۰۰***	۱۲/۷۶	ظرفیت امولسیون کنندگی
۹۶/۰	۰/۰۰۰***	۲۶/۶۷	پایداری حرارتی امولسیون
۹۱/۸	۰/۰۰۰***	۱۲/۵۳	کف

آب‌گریزی سطحی

آب‌گریزی سطحی پروتئین‌ها در در پی‌اچ‌های مختلف در شکل ۳ قابل مشاهده است. برای هر سه پروتئین کمترین میزان آب‌گریزی در پی‌اچ ۵ مشاهده شد در حالیکه نتایج نشـان‌دهنـده بیشـترین میـزان آب‌گریزی در پی‌اچ ۳ بود.



شکل ۳- نمودار آب گریزی سطحی سه پروتئین لوبیا پاچ باقلا، لوبیا قرمز و لوبیا سفید

بررسی‌ها نشان داده است که مولکول‌های پروتئین در پی‌اچ ۵ به دلیل عدم وجود بار الکتریکی و نیروی دافعه کافی توسط برهمکنش‌های آب‌گریز بهم متصل می‌شوند (Foegeding & Davis, 2011; Lam & Nickerson, 2013). این اتصال باعث ایجاد تجمعات پروتئینی شده و بنابراین برخی از گروه‌های آب‌گریز مخفی خواهند شد. در حقیقت این گروه‌های آب‌گریز در سطح پروتئین نخواهند بود و در معرض اتصال با پروب قرار ندارند. این نتیجه پیش از این توسط Jarpa-Parraa و همکاران (۲۰۱۵) که میزان آب‌گریزی سطحی پروتئین عدس را در پی‌اچ‌های مختلف بررسی کرده بودند نیز تایید شده بود (Jarpa-Parraa *et al*., 2015).

آب‌گریزی پروتئین‌ها در پی‌اچ ۳ بیشتر از این کمیت در پی‌اچ ۷ بود. بنظر می‌رسد رابطه‌ای معکوس بین حلالیت و آب‌گریزی پروتئین وجود دارد. این نتیجه پیش از این توسط Meng و Ma (۲۰۰۲) نیز برای پروتئین سویا گزارش شده بود (Meng & Ma, 2002). همچنین این نتیجه را می‌توان به بار الکتریکی سطحی بیشتر پروتئین‌های لوبیا در پی‌اچ ۷ نسبت داد. نتایج پژوهش‌های قبلی نشان داد که پروتئین هر سه لوبیای مورد بررسی در پی‌اچ ۷ بار الکتریکی سطحی بیشتری نسبت به پی‌اچ‌های ۳ و ۵ دارند (Rahmati *et al*., 2016). بنابراین می‌توان انتظار داشت هرچه فاصله از نقطه ایزوالکتریک بیشتر باشد بار الکتریکی سطحی بیشتر و آب‌گریزی پروتئین کمتر خواهد بود.

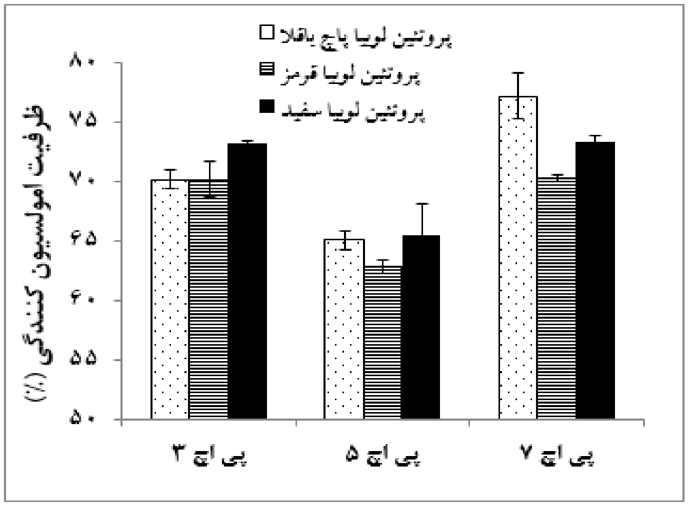
پروتئین لوبیا پاچ باقلا و پروتئین لوبیا سفید به ترتیب دارای کمترین و بیشترین مقدار آب‌گریزی بودند (P<۰/۰۵)، گرچه پروتئین لوبیا سفید در پی‌اچ ۵ کمترین آب‌گریزی را نشان داد که احتمالا دلیل این مساله پیوندهای آب‌گریز بیشتر بین مولکول‌های این پروتئین و در دسترس نبودن این گروه‌ها برای اندازه‌گیری بوده است.

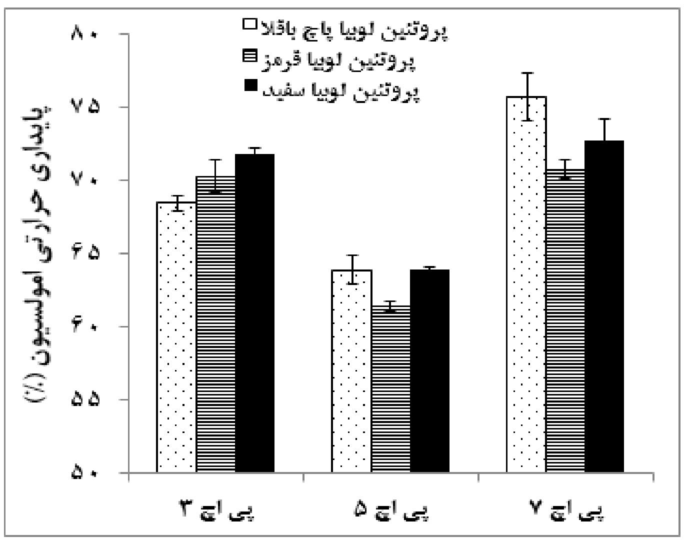
ظرفیت امولسیون‌کنندگی و پایداری حرارتی امولسیون

ارزیابی ظرفیت امولسیون‌کنندگی پروتئین‌ها نشان داد که این کمیت وابسته به نوع پروتئین و پی‌اچ می‌باشد (شکل ۴). برای هر سه پروتئین حداقل ظرفیت امولسیون‌کنندگی در پی‌اچ ۵ مشاهده شد که در تطابق با مشاهدات دیگر پژوهشگران بود (Cheng *et al*., 2009). نامبردگان نیز بطور مشابه کمترین فعالیت امولسیفایری پروتئین را در پی‌اچ ۵ (محدوده ایزوالکتریک) مشاهده کردند. McClements (۲۰۰۹) دافعه الکترواستاتیک را مکانیسم اصلی در پایدارسازی امولسیون‌های پایدار شده با پروتئین دانست. به این ترتیب در محدوده پی‌اچ ایزوالکتریک دافعه بین ذرات پوشیده شده با پروتئین کافی نبوده و نمی‌تواند مانع از بهم پیوستن ذرات روغن شود (McClements , 2005). برای هر سه پروتئین ظرفیت امولسیون‌کنندگی در پی اچ ۳ کمتر از پی‌اچ ۷ بود. داده‌ها نشان‌دهنده این مسئله است که فعالیت امولسیفایری پروتئین‌ها با حلالیت پروتئین رابطه مستقیم و با آب‌گریزی پروتئین رابطه عکس دارد. دیگر محققین نیز نتیجه مشابهی را گزارش کردند (Lin & Zayas, 1987; Cheng *et al*., 2009).در توجیه این مساله می‌توان بیان کرد که پروتئین‌هایی با حلالیت بیشتر امولسیفایرهای بهتری هستند. به‌عبارت دیگر پروتئین‌هایی با حلالیت کم امولسیفایرهای ضعیفی هستند زیرا پروتئین باید در ابتدا حل و سپس بتواند بر روی سطح ذرات روغن توزیع شود (Zayas, 1997).

بیشترین ظرفیت امولسیون‌کنندگی در پی‌اچ‌های ۵ و ۷ برای پروتئین لوبیا پاچ باقلا بدست آمد که می‌تواند به دلیل حلالیت بیشتر این پروتئین در این دو پی‌اچ باشد. گرچه علیرغم حلالیت بیشتر این پروتئین در پی‌اچ ۳ فعالیت امولسیفایری این پروتئین در پی‌اچ ۳ نسبت به دو پروتئین دیگر کمتر بود. از طرف دیگر پروتئین لوبیا سفید کمترین حلالیت را در همه پی‌اچ‌ها داشت اما در پی‌اچ ۳ فعالیت امولسیفایری بیشتری نسبت به پروتئین لوبیا قرمز و حتی پروتئین لوبیا پاچ باقلا داشت. بنظر می‌رسد که علاوه بر حلالیت پروتئین، فعالیت امولسیفایری می‌تواند تحت تاثیر دیگر پارامترهای مربوط به ساختار پروتئین مانند اندازه آن قرار گیرد. در واقع پروتئین‌هایی با اندازه بزرگتر دارای سطح قابل دسترس بیشتری هستند. این پروتئین‌ها باز آرایی ساختاری بهتری بر روی سطح مشترک داشته و می‌توانند لایه محافظ قوی‌تر و با چگالی بیشتر تشکیل دهند (Lam & Nickerson, 2013). پژوهش‌های قبلی نشان داد که پروتئین لوبیا پاچ باقلا دارای اندازه کوچکتر در پی‌اچ ۳ نسبت به دیگر پی‌اچ‌ها است. بنابرین می‌توان انتظار داشت ساختار فشرده‌تر این پروتئین در پی‌اچ ۳ دلیل فعالیت امولسیفایری کمتر این پروتئین در این پی‌اچ است (Rahmati *et al*., 2016).

روندی مشابه با آنچه برای فعالیت امولسیفایری بیان شد برای پایداری حرارتی نیز مشاهده گردید (شکل ۴). نتایج نشان‌دهنده کاهش اندک پایداری امولسیون در اثر اعمال حرارت بود (حداکثر تا ۳ درصد). دیگر پژوهشگران نیز گزارش کردند که حرارت بالا باعث فلوکه شدن ذرات روغن می شود (*et al*., 2008; Depree Ghoush & Savage, 2001).این محققین بیان نمودند که افزایش دما باعث افزایش حرکات براونی ذرات روغن و همچنین کاهش گرانروی فاز پیوسته امولسیون می‌شود. آنها هر دو این عوامل را از دلایل کاهش پایداری اموسیون با افزایش حرارت دانستند (Depree & Savage, 2001).





شکل ٤- ظرفیت امولسیون‌کنندگی و پایداری حرارتی امولسیون سه پروتئین لوبیا پاچ باقلا، لوبیا قرمز و لوبیا سفید

توانایی تولید ژل

توانایی تشکیل ژل هر سه پروتئین در دامنه پی‌اچ ۳ تا ۷ در جدول ۲ خلاصه شده است. نتایج نشان داد که تشکیل ژل تحت تاثیر غلظت پروتئین، آب‌گریزی آن و پی‌اچ محیط قرار می‌گیرد. برای هیچ کدام از پروتئین‌ها در غلظت ۴ درصد ژل مشاهده نشد. اما با افزایش غلظت پروتئین به مقادیر بالاتر در پی‌اچ‌های مختلف ژل تشکیل شد.

Eltayeb و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند که با افزایش غلظت پروتئین از برهمکنش‌های بین پروتئین و مولکول‌های آب کاسته شده و برهمکنش‌های پروتئین-پروتئین افزایش خواهند یافت (Eltayeb *et al.*, 2011). نتایج نشان‌دهنده رابطه مستقیم بین آب‌گریزی پروتئین‌ها و توانایی تشکیل ژل آنها بود بطوری‌که پروتئین لوبیا سفید با بیشترین آب‌گریزی بیشترین توانایی را در تشکیل ژل داشت. مشابه با این نتایج، دیگر محققین نیز آب‌گریزی پروتئین را مهم‌ترین عامل در تشکیل ژل ذکر کردند (Zayas, 1997; Nakai *et al.*, 1986).

در پی‌اچ ۵ ژلی مشاهده نشد. به دلیل عدم وجود بار الکتریکی کافی بر روی سطح پروتئین و حلالیت کم پروتئین در این محدوده از پی‌اچ، توانایی تشکیل ژل پروتئین ضعیف خواهد بود (Zayas, 1997). مقایسه داده‌ها با نتایج حاصل از دیگر پژوهش‌ها نیز نشان‌دهنده توانایی بسیار مناسب هر سه پروتئین در تشکیل ژل است.

به‌عنوان مثال دیگر محققین غلظت بین ۱۴ تا ۱۸ درصد را برای تشکیل ژل توسط پروتئین‌های نخود، سویا و بادام‌زمینی لازم دانستند (Eltayeb *et al.*, 2011; Boye *et al.*, 2010).

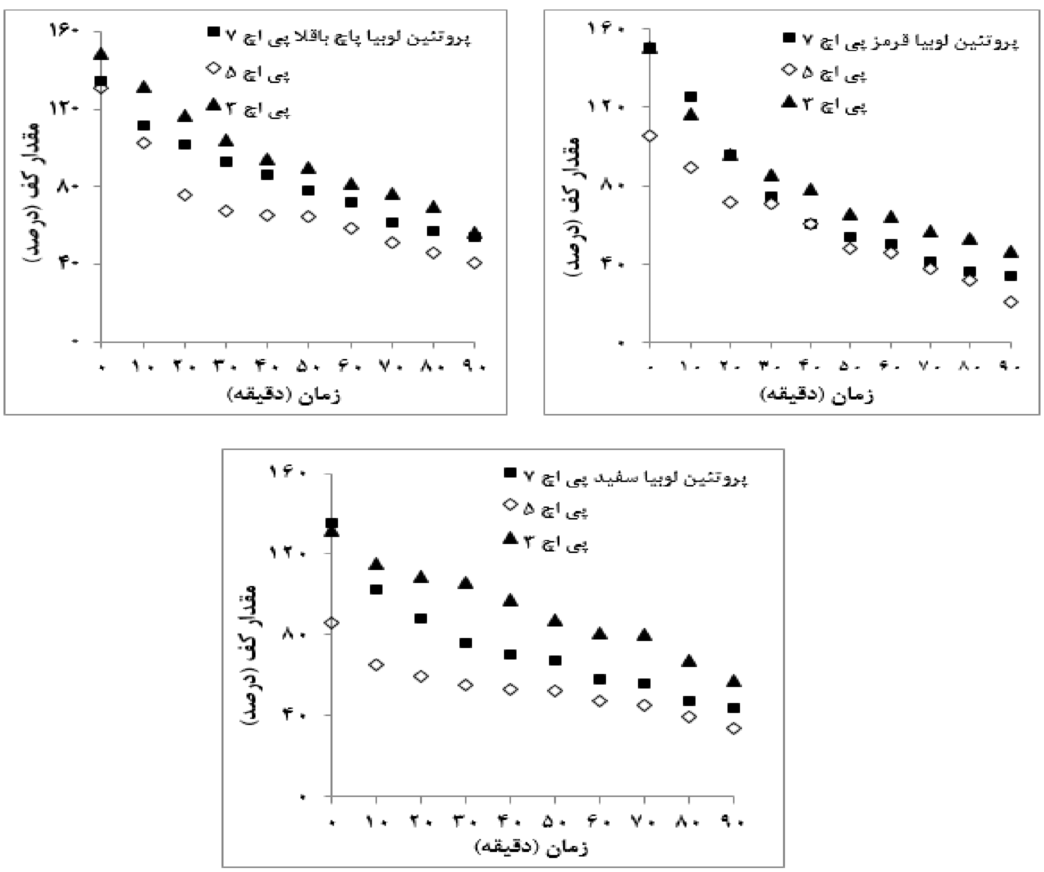
کف‌کنندگی

برای هر سه پروتئین بیشترین کف‌کنندگی به ترتیب در پی‌اچ ۳ و بعد از آن ۷ و ۵ مشاهده گردید (شکل ۵).

همانند آنچه برای ژل بیان گردید، در تشکیل کف نیز آب‌گریزی پروتئین و پیوندهای شکل گرفته بین مولکول‌های پروتئین تاثیرگذارترین عامل بود. آب‌گریزی و پیوندهای آب‌گریز بین مولکول‌های پروتئین می‌تواند باعث تشکیل لایه‌ای پروتئینی در اطراف حباب‌های هوا شود. این برهمکنش‌ها می‌توانند با تشکیل لایه‌ای ضخیم کف پایداری را تولید کنند (Zayas, 1997; Adebowale & Lawal, 2003).

جدول ۲- تشکیل ژل سه پروتئین لوبیا پاچ باقلا، لوبیا قرمز و لوبیا سفید

پی اچ ۳	٪۴	٪۶	٪۸	٪۱۰	٪۱۲
پروتئین پاچ باقلا	مایع	ژل	ژل	ژل	ژل
پروتئین لوبیا قرمز	مایع	ژل	ژل	ژل	ژل
پروتئین لوبیا سفید	نیمه ژل	ژل	ژل	ژل	ژل
پی اچ ۵	٪۴	٪۶	٪۸	٪۱۰	٪۱۲
بدون ژل					
پی اچ ۷	٪۴	٪۶	٪۸	٪۱۰	٪۱۲
پروتئین پاچ باقلا	مایع	مایع	نیمه ژل	ژل	ژل
پروتئین لوبیا قرمز	مایع	نیمه ژل	ژل	ژل	ژل
پروتئین لوبیا سفید	مایع	ژل	ژل	ژل	ژل



شکل ۵- کف کنندگی و پایداری کف سه پروتئین لوبیا پاچ باقلا، لوبیا قرمز، لوبیا سفید

به علاوه حلالیت کم پروتئین در پی‌اچ ۵ باعث کاهش فعالیت سطحی در این پی‌اچ می‌شود. دیگر محققین رابطه‌ای مستقیم بین کف‌کنندگی و حلالیت پروتئین را برای پروتئین‌هایی نظیر تخم مرغ، سویا و ماهی را گزارش کردند (Cherry & McWaters, 1981). دلیل این مساله را می‌توان به ناتوانی پروتئین نامحلول در کاهش کشش بین سطحی آب و هوا نسبت داد (Eltayeb *et al*., 2011).

مقادیر مختلفی برای کف‌کنندگی پروتئین‌های مختلف گیاهی در دیگر منابع گزارش شده است. به‌عنوان مثال کف‌کنندگی بین ۴۰ تا ۵۰ درصد برای پروتئین‌های سویا، لوپین و نخود گزارش شده است. همچنین مقادیر ۲۰۰ درصد برای پروتئین دانه باقلا و ۳۱۵ درصد نیز برای نوعی دیگر از نخود مشاهده شده است (Sathe, 2002). بنابراین کف‌کنندگی سه پروتئین مورد مطالعه در این تحقیق (۹۰ تا ۱۵۰ درصد در پی‌اچ‌های مختلف) را می‌توان مناسب توصیف کرد. گرچه اعداد گزارش شده در منابع مختلف تابعی از شرایط خاص مورد بررسی از جمله پی‌اچ، غلظت پروتئین و شرایط تولید کف است

نتیجه‌گیری

نتایج نشان‌دهنده تاثیر مستقیم ویژگی‌های ساختاری پروتئین بر عملکرد آن در سیستم‌های مختلف بود. حلالیت بیشتر باعث افزایش فعالیت امولسیفایری و آب‌گریزی پروتئین نیز در تشکیل ژل و کف موثر بود. پروتئین لوبیا پاچ باقلا با حلالیت بیشتر امولسیون پایدارتری تولید کرد در حالیکه پروتئین لوبیا سفید با آب‌گریزی بیشتر توانایی تشکیل ژل بهتری داشت بگونه‌ای که برای این پروتئین در غلظت ۶ درصد در دو پی‌اچ ۳ و ۷ ژل مشاهده گردید. بطور کلی نتایج این تحقیق تاییدکننده این مطلب است که برای هر کدام از ویژگی‌های عملکردی پروتئین، این مولکول باید ویژگی‌های ساختاری منحصر به‌فرد داشته باشد.

منابع

Adebowale, K. O., &Lawal, O. S., 2003, Foaming, gelation and electrophoretic characteristics of macuna bean (Macunapruriens) protein concentrate. *Food Chemistry*, 83, 237-246.

Aluko, R. E., Mofolasayo, O. A., & Watts, B. M., 2009, Emulsifying and foaming properties of commercial yellow pea (Pisumsativum L.) seed flours. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 (20), 9793–9800.

Asadpoor, A., Jafari, S. M., Sadeghi Mahoonak, A. Ghorbani, M., 2011, Evaluaion of emulsifying capacity and effect of acidity and ionic strength on different legume flours. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 6 (3), 80-91.

Bagheri, A., Mahmoudi, A., & Ghezeli, F., 2001, Common beans, research for crop improvement, Mashhad, JDMPress, pp: 10-38.

Bengoechea, C., Romero, A., Aguilar, J. M., Cordobes, F., & Guerrero, A., 2010. Temperature and pH as factors influencing droplet size distribution and linear visco-elasticity of O/W emulsions stabilized by soy and gluten proteins. *Food Hydrocolloids*, 24 (), 783–791.

Boye, J. I., Aksay, S., Roufik, S., Ribéreau, S., Mondor, M., Farnworth, E., &Rajamohamed, S. H., 2010, Comparison of the functional properties of pea, chickpea and lentil protein concentrates processed using ultrafiltration and isoelectric precipitation techniques. *Food Research International*, 43 (2), 537–546.

Chang, C., Tu, S., Ghosh, S., & Nickerson, M. T., 2015, Effect ofpH on the inter-relationships between the physicochemical, interfacial and emulsifying properties for pea, soy, lentil and canola protein isolates. *Food Research International*, 77 (3), 360-367.

Cheng, J., Zhou, S., Wu, D., Chen, J., Liu, D., & Ye, X., 2009, Bayberry (MyricarubraSieb. etZucc.) kernel: A new protein source.*Food Chemistry*, 112 (2), 469–473.

Cherry, J. P. &McWaters, K. H., 1981,Whippability and aeration, In: Cherry, P. (ed.), Protein Functionality in Foods, ACS Symposium Series 147,Washington, pp: 205-304.

Damodaran, S., 1994, Structure function relationship of food proteins, In: Hettiarachchy, N.S. & Gregory, R. (ed.), Protein functionality in food systems, Florida, CRC Press, pp: 1-33.

Depree, J. A., & Savage, G. P., 2001,physical and flavour stability of mayonnaise. *Trends in Food Science & Technology*, 12 (5), 157–163.

Dziuba, J., Szerszunowicz, I., Nalecz, D., &Dziuba, M., 2014, Proteomic analysis of albumin and globulin fractions of pea (*Pisumsativum* L.) seeds.*ActaScientiarumPolonorumTechnologiaAlimentaria*, 13 (2), 181-190.

Eltayeb, A. R. S. M, Ali, A. O., Abou-Arab, A. A., & Abu-Salem, F. M., 2011,Chemical composition and functional properties of flour and protein isolate extracted from Bambara groundnut (Vigna subterranean). *African Journal of Food Science*, 5 (2), 82 – 90.

Feyzi, S., Varidi, M., Zare, F. & Varidi, M. J., 2013, Study of chemical compositions, color carameters, and functional properties of fenugreek flour and their comparison with those of soy flour. *Journal of Research and Innovation in Food Science and Technology*, 2 (2), 121-138.

Fennema, O. R., 1996, Food chemistry, New York, Marcel Dekker, pp: 217-330.

Foegeding, E. A., & Davis, J. P., 2011, Food protein functionality: A comprehensive approach. *Food Hydrocolloids*, 25 (8), 1853-1864.

Fuente, M., López-Pedrouso, M., Alonso, J., Santalla, M. De Ron, A. M., Álvarez, G., & Zapata, C., 2012, In-Depth Characterization of the phaseolin protein diversity of Common bean (*phaseolus vulgaris* L.) based on two-dimensional electrophoresis and mass spectrometry. *Food Technol. Biotechnol*, 50 (3), 315–325

Ghorbanian, F., 2014, Study of the Effect of grass pea (*Lathyrus sativus*) protein isolate on physicochemical properties of oil in water emulsion stabilized with xanthan gum. MS thesis, Ferdowsi University of Mashhad.

Ghoush, M. A., Samhourim, M., Al-Holy, M., & Herald, T., 2008, Formulation and fuzzy modeling of emulsion stability and viscosity of gum-protein emulsifier in a model mayonnaise system. *Journal of Food Engineering*, 84 (2), 348-357.

Hemmati, A., 2011, Management of chemical fertilizers consumption in legumes, Esfahan, Nosooh.

Jarpa-Parraa, M., Bamdada, F., Tiana, Z., Zengb, H., Temellia, F., & Chena, L., 2015, Impact of ph on molecular structure and surface properties of lentil legumin-like protein and its application as foam stabilizer. Colloids and Surfaces B: *Bio interfaces*, 132, 45–53.

Karaca, A. C., Low, N., & Nickerson, M., 2011, Emulsifying properties of chickpea, faba bean, lentil and pea proteins produced by isoelectric precipitation and salt extraction. Food Research International, 44 (9), 2742–2750.

Lam, R. S.H., & Nickerson, M. T., 2013, Food proteins: A review on their emulsifying properties using a structure–function approach.*Food Chemistry*, 141 (2), 975–984.

Lin, C. S. &Zayas, J. F., 1987, Protein solubility, emulsifying stability and capacity of two defatted com germ proteins. *Journal of Food Science*, 52 (6), 1615-1619.

Meng, G., & Ma, C. Y., 2002, Characterization of globulin from phaseolusangularis (red bean). International Journal of *Food Science and Technology*, 37 (6), 687–695.

McClements, D. J., 2005, Food Emulsions: Principles, Practices, and Techniques, New York, CRC press, pp: 129-166.

Montoya, C. A., Lalles, J. P., Beebe, S., &Leterme, P., 2009, phaseolin diversity as a possible strategy to improve the nutritional value of common beans (*Phaseolus vulgaris*). *Food Research International*, 43 (2), 443-449.

Moure, A., Domıngueza, H., Zunigab, M. E., Sotob, C., &Chamy, R., 2002,Characterisation of protein concentrates from pressed cakes of Guevinaavellana (Chilean hazelnut). *Food Chemistry*, 78 (2), 179–186.

Nakai, S., Li-Chan, E., & Hayakawa, S., 1986, Contribution of protein hydrophobicity to its functionality. Die Nahrung, 30 (3-4), 327-336.

Natarajan, S. S., Pastor-Corralesa, M. A., Khan, F. H., & Garrett, W. M., 2013, Proteomic analysis of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by two-dimensional gel electrophoresis and mass spectrometry.*Journal of Basic & Applied Sciences*,9,424-437.

Owusu-Apenten, R. K., 2002, Food protein analysis Quantitative effects on processing, Marcel Dekker,New York, pp: 47-64.

Papalamprou, E. M., Doxastakis, G. I., & Kiosseoglou, V., 2010,Chickpea protein isolates obtained by wet extraction as emulsifying agents. *Journal of the Science of Food Agriculture*, 90 (2), 304–313.

Pauling, L., 2001, selected scientific papers (volume 2), *World scientific*, USA, and pp: 963-1090.

Rahmati, N. F., Koocheki, A., Varidi, M., & Kadkhodaee, R., 2016, Adsorption of Speckled Sugar bean protein isolate at oil-water interface: effect of ionic strength and pH. *International Journal of Biological* Macromolecules, http:// dx.doi.org /10.1016/j.ijbiomac.2016.11.008.

Sathe, S. K., 2002, Dry bean protein functionality.*Critical Reviews in Biotechnology*, 22 (2), 175–223.

Scippa, G. S., Rocco, M., Trupiano, D., Viscosi, V., DiMichele, M., Arena, S., Chiiatante, D. &Scaloni, A. 2010. The proteome of lentil (Lens culinarisMedik.) seeds: discriminating between landraces. *Electrophoresis*, 31 (3), 497-506.

Siddiq, M. &Uebersax, M. A., 2013, Dry beans and pulses production and consumption- an overview, In: Siddiq, M. &Uebersax, M. A. (ed.),Dry beans and pulses production, processing and nutrition, Wiley and Blackwell,Iowa, pp: 205-234.

Thaiphanit, S.,&Anprung, P., 2015, Physicochemical and emulsion properties of edible protein concentrate from coconut (Cocos nucifera L.) processing by-products and the influence of heat treatment. *Food Hydrocolloids*, 52, 756-765.

Zayas, J., 1997, Functionality of proteins in food.Springer, New York.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 1, Apr. May. 2017, p. 79- 91

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۳، شماره ۱، فروردین-اردیبهشت ۱۳۹۶ ص.۹۱-۷۹

Structural and functional properties of three genotypes of common bean proteins (*Phaseolus vulgaris*)

N. F. Rahmati[1], A. Koocheki[2*], M, Varidi[3], R. Kadkhodaee[4]

Received: 2016.08.16
Accepted: 2017.01.17

Introduction: Proteins are food ingredients with critical functional properties and participation in developing food products. So far, functional properties of several plant proteins such as pea, chickpea and lentil, groundnut, beach pea and bayberry have been investigated. Nowadays, there is an increasing demand for plant proteins because they are available and inexpensive. Legume proteins are important plant protein sources. However, except for soy, due to the inadequate information about their structural and functional properties, they do not have appropriate application as functional ingredients in food products. Beans are a great source of nutrients such as protein, carbohydrate, dietary fiber, minerals and vitamins. Based on the several research reports, different dry beans have 15-25% protein and they are the second group of legume seeds, after soy, cultivated throughout the world. As mentioned earlier, insufficient information about structure of legume proteins is the main reason why they are unexploited in food industry. Therefore, the goal of this research was to evaluate the functional properties of proteins from three types of common bean (Speckled Sugar, Red Mexican and Great Northern bean). We also have attempted to evaluate the structure-function relation of these three sources of bean proteins because it is known that there is a direct relation between chemical conformation and the function of a protein which must be considered in food processing.

Materials and methods: Protein of three types of common bean (Speckled Sugar, Red Mexican, and Great Northern) was extracted (pH 9, water flour 10:1). Afterwards, their physicochemical (including protein electrophoresis pattern, solubility, hydrophobicity), and functional properties (including emulsifying capacity, heat stability, gelation and foaming capacity) were evaluated to understand how bean protein structure influences its structure. Electrophoresis pattern was obtained based on 2 dimensions (pH and molecular weight). Protein solubility was evaluated by biuret method at pH range 3-9. ANS (8-anilino-1-naphthalenesulfonic acid) was used to measure surface hydrophobicity (pH 3-7).Emulsion samples (1% protein, 25% sunflower oil, pH 3-7) were produced, then emulsion capacity and emulsion heat stability (80°C for 30 min) were evaluated. Gelation of proteins was evaluated at protein concentration of 4-12% at different pH values (3-7). Foaming capacity (%) was measured as the difference between volume after and before whipping. Foam stability (%) was recorded during 90 minutes.

Results and Discussion: Results showed that all proteins were rich in Phaseolin. In fact, this fraction was the major building fraction of all three bean proteins. Evaluation of solubility indicated that isoelectric point of three proteins was located at acidic pH range (pH 4.5). Results confirmed an indirect relation between protein solubility and hydrophobicity. All three protein isolates, similar to the other legumes protein, were more soluble at alkaline pH, while the highest surface hydrophobicity was observed at pH 3. Generally, Speckled Sugar bean protein had the most solubility, while Great Northern bean protein showed the highest surface hydrophobicity. Among three bean protein isolates, Speckled Sugar bean protein performed better as an emulsifier, whereas Great Northern bean protein formed gel at the lowest concentration (6% at pHs 3 and 7). In addition, foaming was higher at acidic pH (pH 3). Therefore, it was concluded that emulsifying capacity is mostly influenced by protein solubility, while gelation and foaming properties are affected by protein hydrophobicity. As the main consequence, the results achieved in this research confirmed that there is a direct relation between structure and the function of a protein. In fact, special structural properties are responsible for special functions.

1, 2 And 3. Ph.D student, Associate professor and Assistant professor, Department of food science and technology, Ferdowsi university of Mashhad.
4. Associate professor, Research institute for food science and technology, Department of food nanotechnology
(*Corresponding author: koocheki@um.ac.ir)

Key words: Bean Protein, Structure, Function, Emulsion, Gel, Foam